HISTOLOGIA DE LA PIEL DE *RHINODERMA DARWINII* D & B EN RELACION CON SU COLOR Y VARIABILIDAD

RAMÓN FORMAS (*)

1. Introducción

Los sapos y ranas presentan a menudo vistosos colores y dibujos. En este sentido la fauna chilena muestra numerosos ejemplos, destacando entre ellos *Rhinoderma darwinii* D. & B., ranita colectada por DARWIN en el viaje del "Beagle". Este animal ha llamado la atención de los zoólogos por su particular modo de reproducción (ESPADA, 1872; WILHEM, 1927 y 1932 y NOT *in* C. GAY, 1848; WERNER, 1897; CAPURRO, 1957 y 1958 y PFLAUMER, 1934), y también por el colorido y dibujo (GUICHE-KILIAN, 1965). Este último autor indica la coloración básica (negro, blanco, verde y café), sus cambios de tonalidad y los patrones de dibujo (unicolor, lateralis y angulata). Sin embargo, desconocemos los tipos de cromatóforos que existen en la piel, los mecanismos que intervienen en el cambio de tonalidad y el origen y distribución de las células pigmentarias en los patrones de dibujo. Muchos de estos problemas ya han sido analizados en otras especies de anuros, existiendo hoy día una abundante literatura al respecto. Entre ella, destacan los trabajos de SCHMIDT (1920) y la revisión de PARKER (1930) quienes estudian los cromatóforos en los cambios de coloración. Los efectos de las hormonas en la pigmentación han sido investigados por HOBGEN & SLOME (1931 y 1936); SUMMER (1940) y FISCHER (1953). La influencia del sistema nervioso en la coloración de los anuros ha sido tratada por VILLALOBOS (1955). El origen y distribución de las células pigmentarias han sido estudiados por DUSHANE (1935) y revisados por DUSHANE (1943) y RAWLES (1948). Posteriormente este mismo tipo de problemática ha sido tratada por STEVENS (1954).

Siendo el "sapito de DARWIN" muy llamativo por su brillante colorido, se ha iniciado la presente investigación con el objeto de saber qué tipos de cromatóforos existen en la piel, cómo participan en la estructuración de los colores básicos y cuál es su comportamiento en el cambio de tonalidad.

2. Material y métodos

Los animales usados en este trabajo se colectaron durante 1966 y 1967 en bosques y quebradas húmedas de las siguientes localidades: Los Molinos, La Saval, Huachocopihue y Mehuín,

(*) Instituto de Zoología, Universidad Austral de Chile, Valdivia.

todas ellas ubicadas en la provincia de Valdivia (Chile). Se capturó un total de 215 ranitas, las que fueron registradas por su colorido y dibujo. La coloración se anotó según la escala decimal de colores de PACLT (1958), usándose el mismo registro para medir la tonalidad de los colores básicos. Los patrones de dibujo se clasificaron según las variedades reconocidas por KILIAN (1965). El estudio histológico de la piel se hizo por métodos corrientes, usándose como colorante Hematoxilina - Eosina (ROMEIS, párrafo 2081). Para hacer el estudio del grado de expansión de los melanóforos se emplearon trozos de piel clarificados en xilol.

Para obtener las diversas tonalidades de los colores básicos, especialmente verde y café, se utilizó el métodos descrito por FISHER (1953). De esta manera, se obtuvieron las tonalidades de 3 y 8 viridis para el color verde y 3 y 8 flavus para el color café. El grado de expansión de los melanóforos se midió según la escala de HOBGEN & SLOME (1931).

3. Histología de la piel de *Rhinoderma darwinii* D & B

La piel del dorso es suave y lisa, en los flancos hay pequeñas protuberancias que aumentan en concentración a medida que se llega a la piel del vientre. Esta zona es rica en granulaciones lo mismo que la parte inferior de los muslos, allí son de mayor tamaño y mucho más densas que en la superficie del vientre.

La piel del dorso consta de una epidermis y una dermis, siendo el grosor total de la piel de 82 μm (las medidas que se dan se han obtenido de promedios). La epidermis de 14 μm de espesor se encuentra formada por un estrato cornificado, un epitelio plano simple y un epitelio pluriestratificado. El estrato cornificado es una capa muy delgada de 1,5 μm (medido en material fijado) y cuyo grosor se mantiene casi constante a través de toda la superficie del animal. Bajo el estrato anterior se encuentra un epitelio plano simple constituido por una sola capa de células perpendiculares al estrato pluriestratificado. Este estrato simple de células mide 3 μm de grosor. El largo de las células es de 30 μm. El núcleo es de 8 μm de largo y 2 μm de ancho y su forma es ovalada. El epitelio pluriestratificado está formado por dos o tres capas de células de forma poligonal. El grosor total de este estrato es de 12 μm. Las células tienen un alto de 10 μm y un ancho de 7 μm. El núcleo de forma ovalada se sitúa en la parte central y mide 7 μm de largo y 4 μm. de ancho.

La dermis se ubica bajo el epitelio anteriormente descrito y su grosor total es de 68 μm. En esta capa de la piel es donde se encuentran los cromatóforos. En esta especie encontramos los siguientes tipos de células pigmentarias: lipóforos, guanóforos y melanóforos. Dentro de los lipóforos se encuentran dos tipos: xantóforos y eritróforos. Los xantóforos, de forma redondeada, se sitúan directamente bajo la epidermis y sobre los guanóforos, su diámetro es de 14 μm. El núcleo de forma redondeada se ubica en la parte central y mide 4 μm de diámetro. El pigmento que llevan estas células es de color amarillo y corresponde a la tonalidad de 2 flavus. Los eritróforos tienen la misma ubicación que los xantóforos, la forma es redondeada y miden 13 μm de diámetro. El color del pigmento que llevan estas células es rojo-anaranjado y corresponde a la tonalidad de 3 a 4 auriantacus. Estos cromatóforos se distribuyen en la piel formando pequeñas agrupaciones de 12 células como promedio. A simple vista estos grupos de eritróforos semejan finos puntos de color anaranjado. Bajo los cromatóforos anteriormente citados se ubican los guanóforos. Estas células tienen una forma muy variable: retraídos miden 17 μm de diámetro. Se ubican también bajo la epidermis especialmente en la piel de color blanco. El núcleo es pequeño y fusiforme, ubicándose de preferencia en la parte basal, mide 7 μm de largo y 3 μm de ancho. El citoplasma de los guanóforos se encuentra lleno de finos cristales. Los melanóforos, de forma extraordinariamente variable. se ubican bajo los guanóforos o bajo el epitelio pluriestratificado de la epidermis. Cuando están totalmente retraídos miden 15 μm de diámetro. su pigmento es de color café obscuro y corresponde a la tonalidad de 8 flavus.

El estrato de la dermis donde se ubican los cromatóforos recibe el nombre de capa esponjosa y mide 31 μm de espesor. Además de los cromatóforos se encuentran en el estrato esponjoso dos tipos de glándulas: mucosas y granulares. La densidad de ambas es de 3 a 4 glándulas por cada 200 μm² de superficie de piel. Las glándulas mucosas tienen forma sacular y miden 40 μm de ancho y 32 μm de alto. El epitelio secretor es monoestratificado y se encuentra formado por células cilíndricas, su núcleo de posición basal tienen forma alargada. El citoplasma está lleno de gránulos basófilos que tienen su distribución máxima en el polo apical de las células secretoras. Las glándulas granulares son de mayor tamaño que las mucosas, miden 84 μm de ancho y 58 μm de alto. El epitelio secretor se encuentra formado por células planas de tamaño pequeño; los gránulos de

secreción, de naturaleza acidófila, se visualizan con facilidad dentro del lumen grandular.

El estrato compacto de la dermis, que se ubica en la parte inferior del estrato esponjoso, se encuentra constituido por fibras que forman ondulaciones y que limitan en la parte basal con los planos musculares. El grosor de este estrato es de 37 μm.

La piel ventral de *Rhinoderma darwini* D & B se constituye bajo el mismo plan estructural que la piel del dorso, pero existen algunas diferencias. La epidermis es más gruesa y está formada por cuatro a cinco capas de células. La gran cantidad de granulaciones que aparecen en el vientre están formadas por engrosamientos epidérmicos que, a veces, llegan a constituir papilas en las que con frecuencia se ubican elementos que habitualmente están en la dermis, especialmente melanóforos. Otra diferencia importante es la presencia de numerosos capilares y células sanguíneas que se ubican en el estrato esponjoso de la dermis. Los restantes elementos son idénticos a la piel del dorso.

4. Cromatóforos de los colores básicos

A.—Cromatóforos en la piel de color negro:

Coloración negra se encuentra solamente en la región del vientre, allí se forman manchas de forma irregular que se extienden hasta la parte inferior de los muslos y piernas. En la piel de este color se encuentran únicamente melanóforos, los que constituyen una capa de 16 μm de espesor, que se sitúan inmediatamente por debajo de la epidermis. Este estrato consta de una a dos capas de células que se hallan muy entremezcladas entre sí, de manera que es muy difícil distinguir los contornos celulares. Esta unión se hace más laxa en la parte inferior del estrato, pero de todos modos las prolongaciones melanofóricas se encuentran envolviendo a los capilares, glándulas mucosas y glandulares. El grado de expansión de los melanóforos corresponden al grado cuatro o cinco de la escala de medida. Ia estructura de la piel de color negro se indica en la fig. 1.

B.—Cromatóforos en la piel de color blanco:

Manchas de color blanco se encuentra exclusivamente en la piel del vientre. Estas manchas que muy a menudo son de

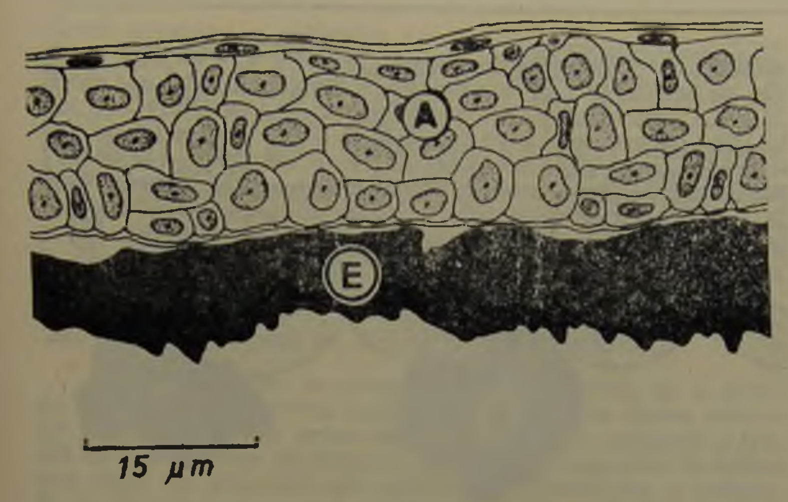


Fig. 1

Cromatóforos en la piel de color negro. A.— epidermis. E.— capa de melanóforos. Dibujo semiesquemático.

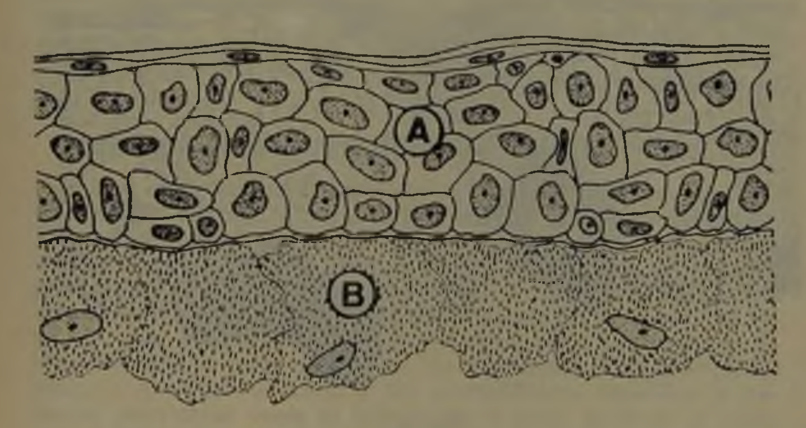


Fig. 2

Cromatóforos en la piel de color blanco. A.— epidermis. B.— capa de guanóforos. Dibujo semiesquemático.

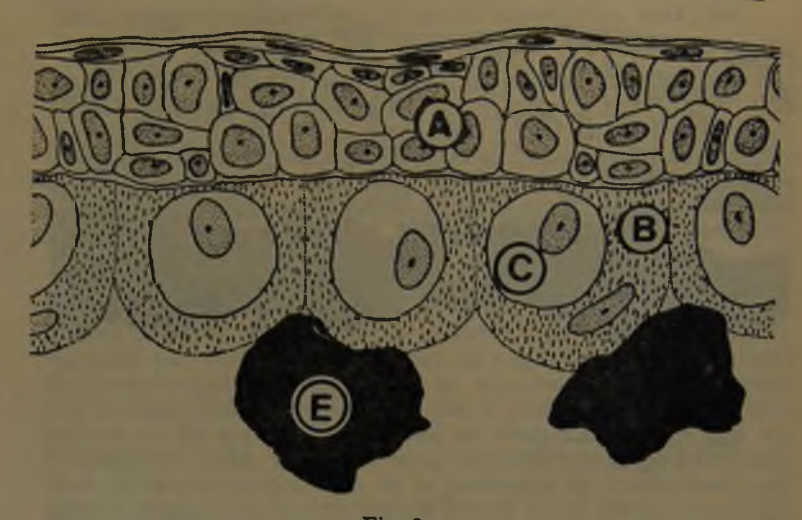


Fig. 3
Cromatóforos en la piel de color verde. A.— epidermis. B.— guanóforos. C.— xantóforos. E.— melanóforos. Dibujo semiesquemático.

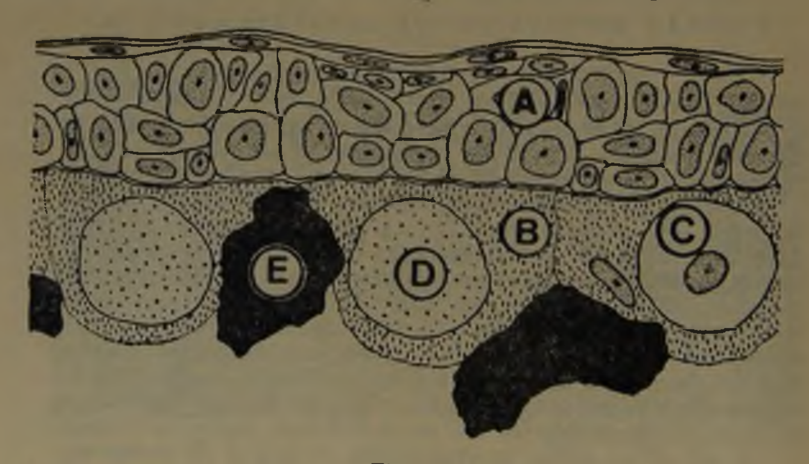


Fig. 4
Cromatóforos en la piel de color café. A.— epidermis. B.— guanóforos. C.— xantóforos. D.— eritróforos. E.— melanóforos. Dibujo semiesquemático.

forma irregular se extienden también a los brazos y piernas. En la piel de este color se ubican exclusivamente guanóforos. Estos se distribuyen como una capa continua de 21 μm de grosor que se hallan bajo la epidermis. Este estrato está formado por tres a cuatro capas de guanóforos que ocupan la capa esponjosa de la dermis. En la parte superior del estrato los guanóforos están unidos íntimamente entre sí, pero en las partes más profundas la unión se torna muy laxa, de manera que se puede apreciar cuando los guanóforos envuelven a los capilares y glándulas. La estructura de la piel de color blanco se indica en la fig. 2.

C.—Cromatóforos en la piel de color verde:

Coloración verde se encuentra exclusivamente en el dorso de las ranitas, allí forma manchas angulares, de forma irregular y a veces el color presenta una distribución uniforme a través de todo el dorso del animal. En la piel de este color se hallan tres tipos de cromatóforos: xantóforos, guanóforos y melanóforos. Bajo la epidermis y en íntimo contacto con ella se ubica una capa de xantóforos de 12 μm de grosor, constituida por una fila de células. Los guanóforos situados bajo el estrato anterior forman una delgada hilera de células. Xantóforos y guanóforos se adosan íntimamente entre sí, resultando de esta unión, que los guanóforos pueden adoptar formas variables, especialmente de media luna. Los melanóforos se sitúan más profundamente en la piel y en íntimo contacto con los guanóforos. La estructura de la piel de color verde se indica en la fig. 3.

D.—Cromatóforos en la piel café:

Piel de color café se encuentra en el dorso y en los flancos de las ranitas. Forma allí manchas de forma irregular, líneas y dibujos angulares. En la piel de este color se encuentran los siguientes tipos de cromatóforos: xantóforos, eritróforos, guanóforos y melanóforos. Xantóforos y eritróforos están ubicados en una delgada capa bajo la epidermis, el grosor es de 21 μm. Los eritróforos no se distribuyen como una capa continua sino que se intercalan entre los xantóforos. Los guanóforos están a menudo rodeando a los cromatóforos amarillos y naranja, pero otras veces se ubican en la parte inferior de ellos. Los melanóforos se colocan más profundamente bajo los guanóforos. La estructura de la piel de color café se indica en la fig. 4.

5. Cambios de tonalidad en los colores de la piel

A.—Cambios de tonalidad en la piel de color café:

Los cambios de tonalidad que presenta el color café se han estudiado en las tonalidades de 3 y 8 flavus. En la tonalidad de 3 flavus los xantóforos y eritróforos no sufren cambios en la forma y tamaño, los guanóforos cubren casi en su totalidad a los xantóforos y eritróforos. Los melanóforos están totalmente retraídos, correspondiendo al grado 1 de la escala de medida. En la tonalidad de 8 flavus los guanóforos están muy retraídos.

CUADRO 1.

Tipos de cromatóforos que se encuentran en los colores básicos de la piel de **Rhinoderma darwinii D & B.**

Color de la piel	**Tipos de cromatóforos**
Café	xantóforos eritróforos guanóforos melanóforos
Verde	xantóforos guanóforos melanóforos
Negro	melanóforos
Blanco	guanóforos

Los melanóforos cubren a los guanóforos hasta tres cuartos de su porción inferior. Otras veces están muy expandidos y alcanzan a cubrir a xantóforos y eritróforos. Las prolongaciones melanofóricas se encuentran entremezcladas de manera que constituyen una capa continua, situación ésta que no se presenta en la tonalidad de 3 flavus. El grado de expansión de los melanóforos equivale al 3 ó 4 de la escala de medida.

B.—Cambios de tonalidad en la piel de color verde:

Los cambios de tonalidad que presenta el color verde se han estudiado en las tonalidades de 3 y 8 viridis. En la tonalidad de 3 viridis los xantóforos presentan forma redondeada y no se aprecian cambios en ellos. Los guanóforos están abrazando en sus tres cuartos inferiores a los xantóforos. Los melanóforos levemente expandidos (grado 2 ó 3 de la escala) se encuentran separados entre sí, de manera que sus prolongaciones no alcanzan a formar una capa continua. En la tonalidad de 8 viridis los xantóforos no manifiestan cambios en su forma. Los guanóforos se han contraído bajo los cromatóforos de color amarillo. El cambio que experimentan los melanóforos es bastante grande y su grado de expansión corresponde al número 5 de la escala. Las prolongaciones de estas células están cubriendo a los xantóforos hasta su extremo superior. La parte inferior de la capa que forman estos cromatóforos es continua y muy unida por sus prolongaciones.

CUADRO 2

Comportamiento de cromatóforos en los cambios de tonalidad de la piel de color verde.

Tonalidad	Xantóforos	Guanóforos	Expansión melanofórica
3 v	Sin cambio	expandidos cubren lipóforos	grado 2-3
8 v	Sin cambio	retraídos	grado 6

CUADRO Nº 3

Comportamiento de cromatóforos en los cambios de tonalidad de la piel de color café.

Tonalidad	Eritróforos	Guanóforos	Expansión melanofórica
3 f	Sin cambio	cubren xantóforos y eritróforos	grado 1
8 f	Sin cambio	retraídos	grado 5

6. Resumen

1.— En la piel de *Rhinoderma darwinii* D & B se encuentran xantóforos, eritróforos, guanóforos y melanóforos.

2.— En la piel negra hay sólo melanóforos que forman una capa de 16 μm de grosor.

3.— En las manchas de color blanco se encuentran solamente guanóforos que forman una capa de 21 μm de grosor.

4.— Pieles verdes tienen xantóforos, guanóforos y melanóforos.

5.— En las pieles café hay eritróforos, xantóforos, guanóforos y melanóforos.

6.— En los cambios de tonalidad de la piel de color verde se observa una retracción y expansión de guanóforos y melanóforos sobre los xantóforos.

7.— En los cambios de tonalidad del color café se ve una expansión de los guanóforos y melanóforos por encima de xantóforos y eritróforos.

7. Bibliografía

CAPURRO, L.

1957. Anfibios de la región de los lagos valdivianos. Inv. Zool. Chil. 3 : 8 - 10.
1958. Lista preliminar de los anfibios de Chile y breves apuntes sobre su biología. Inv. Zool. Chil. 5 : 289 - 299.

DUSHANE, P. G.

1935. An experimental study of origin of pigment cells in Amphibia. J. Exp. Zool. 72 : 1 - 31.
1943. The embriology of vertebrate pigment cells. Part 1. Amphibia. Quart. Rev. Biol. **18** : 109 - 127.

ESPADA, J. M.

1872. Batracios. Vertebrados del viaje al Pacífico. Anal. Soc. Hist. Nat. Madrid. 1 : 139 - 151.

FISCHER, W.

1953. Contribuciones al estudio de la pigmentación de los vertebrados. Zooiatría. 9 : 3 - 27.

HOBGEN & SLOME

1931. Mechanism of chromatophore control, **Xenopus.** Proc. Roy. Soc. London, B. **108** : 10 - 35.
1936. Mechanism of chromatophore control, **Xenopus.** Proc. Roy. Soc. London, B. **120** ; 158 - 173.

GUICHENOT in GAY

1848. Hist. Fis. y Pol. de Chile. Zoología. 2. París.

KILIAN, E. F.

1965. Das Farbkleid von **Rhinoderma darwinii** D & B. Zeichnug-muster und Variabilität. Beitr. z. Neotrop. Fauna. IV B. **3** : 180 - 190.

PFLAUMER, K.

1934. Biologische Beobachtungen an Rhinoderma darwinii D. B. Der Zoolog. Garten. **7** : 131 - 134.

PACLT, J.

1953. Farbbestimmug in der Biologie. Jena. 76 pp.

PARKER, G. H.

1930. Chromatophores. Biol. Rev. **5** : 59 - 90.

RAWLES, M. F.

1943. Origin of melanophores and their rol in development of color patterns in vertebrates. Physiol. Rev. **28** : 383 - 408.

ROMEIS, B.

1948. Mikroskopische Technik. München. 605 pp.

SCHMIDT, W. J.

1920. Uber das Verhalten der verschiedenartigen Chromatophoren beim Farbwechsel des Lauffrosches. Arch. mikr. Anat. **93** : 414 - 455.

SUMMER, F. B.

1940. Quantitative changes in pigmentation, resulting from visual stimula in fishes and amphibia. Biol. Rev. **15** : 351-378.

STEVENS, C. L.

1954. The origin and development of chromatophore of **Xenopus** laevis and other anurans. J. Exp. Zool. **125** : 222-246.

VILLALOBOS, H.

1955. Influencia del sistema nervioso en la pigmentación de **Pleurodema bibroni.** Zooiatría. **4** : 20-25.

WERNER, F.

1897. Die Reptilien und Batrachier der Sammlung Plate. (Fauna chilensis). Zoolog. J. Suppl. **4** (1) : 244-277.

WILHEM, O.

1927. La Rhinoderma **darwinii** D y B. Soc. Biol. Concepción (Chile). **1** : 3 - 27.

1932. Nuevas observaciones acerca de la neomelia de **Rhinoderma** darwinii D. y B. Rev. Chil. Hist. Nat. **36** : 195-197.